

少腹逐瘀丸多种挥发性成分同时检测的方法研究

马敏, 马鑫, 周瑞雪* (山西省食品药品检验所, 太原 030001)

摘要 目的: 建立同时测定少腹逐瘀丸中桂皮醛、反式茴香脑、蒿本内酯含量的方法。方法: 采用气相色谱法、DM-5毛细柱、程序升温、FID检测器进行检测。结果: 肉桂中桂皮醛、小茴香中反式茴香脑、当归与川芎中蒿本内酯在各自的线性范围内与其峰面积呈良好的线性关系; 平均加样回收率在98.29%~99.02%, RSD均符合规定。结论: 该方法准确、简便、快速, 可用于少腹逐瘀丸中多味药材的多种挥发性成分的检测。

关键词: 中成药; 桂皮醛; 反式茴香脑; 蒿本内酯; 气相色谱法; 少腹逐瘀丸

中图分类号: R927.2; R284.1 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2018)07-0919-08

doi:10.16153/j.1002-7777.2018.07.013

On the Method for Simultaneous Determination of Multiple Volatile Components in Shaofu Zhuyu Pill

Ma Min, Ma Xin, Zhou Ruixue* (Shanxi Institute for Food and Drug Control, Taiyuan 030001, China)

Abstract Objective: To establish a method for simultaneous determination of cinnamaldehyde, cis-anethol, ligustilide in Shaofu Zhuyu Pill. **Methods:** Gas chromatography (GC) was conducted on a DM-5 capillary column with FID detector under programmed temperature. **Results:** Cinnamaldehyde in cinnamon, cis-anethol in fennel, ligustilide in angelica and ligusticum wallichii all had a good linear relationship with their peak area. The average recovery rate was between 98.29% and 99.02%. RSD was in accordance with the regulations. **Conclusion:** The method is accurate, simple, rapid and can be used for the determination of multiple volatile components in Shaofu Zhuyu Pills.

Keywords: Chinese patent medicine; cinnamaldehyde; cis-anethol; ligustilide; gas chromatography; Shaofu Zhuyu Pill

少腹逐瘀丸具有温经活血、散寒止痛之功效。用于寒凝血瘀所致的月经后期、痛经, 产后腹痛等^[1-2]。由当归、蒲黄、五灵脂、赤芍、小茴香、延胡索、没药、川芎、肉桂、炮姜10味处方组成。现行标准为《中国药典》2010年版一部^[3], 仅

收载了当归、蒲黄、赤芍、小茴香、延胡索、肉桂的显微鉴别及赤芍中芍药苷的薄层鉴别, 而中药制剂的活性成分含量高低是反映其有效性的重要指标, 且本处方挥发性成分药材居多, 为达到对多味药材、多个活性成分的有效控制, 有必要采用GC

基金项目: 2014年国家食品药品监督管理总局国家评价性抽验项目-少腹逐瘀丸(编号食药监办药化监[2014]61号)

作者简介: 马敏, 主管药师, 从事药品检验及质量标准研究; E-mail: 56657086@qq.com

通信作者: 周瑞雪; 研究方向: 药品检验及质量标准研究

法^[4],开展肉桂(桂皮醛)^[5-6]、小茴香(反式茴香脑)^[7-8]、当归与川芎(蒿本内酯)^[9-12]的含量测定,以达到更有效地控制产品质量,保证临床用药安全有效的目的。

1 仪器与试药

仪器:Agilent7890A气相色谱仪,FID检测器;对照品:桂皮醛(中国药品生物制品检定所,批号:110710-201016),反式茴香脑(中国药品生物制品检定所 批号:111835-201102),蒿本内酯(北京世纪奥科生物技术有限公司 批号:MUST-14032414);样品:少腹逐瘀丸(批号:7280003,某药业)及国家计划抽验样品21批;其他试药均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:DM-5(5%二苯基-95%二甲基聚硅氧烷固定液)毛细柱(30 m×0.32 mm,0.53 μm);进样口温度:200℃;检测器:FID检测器,温度为300℃;进样口分流比:1:1;柱流量:3 mL·min⁻¹;进样量:1 μL;色谱柱升温程序见表1。

表1 色谱柱升温程序

升温速率/(℃·min ⁻¹)	柱箱温度/℃	保持时间/min
/	100	0
3	250	0
20	280	5

2.2 供试品溶液的制备

取样品,剪碎,取约5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加水5 mL,精密加入乙酸乙酯25 mL,称定重量,超声提取(功率:250 W,频率:33 kHz)20 min,再水浴中加热回流1 h,称定重量,用乙酸乙酯补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3 对照品溶液的制备

取桂皮醛、反式茴香脑及蒿本内酯对照品适量,精密称定,分别加乙酸乙酯制成每1 mL含30 μg、20 μg及100 μg的溶液,即得。

2.4 专属性试验

取处方中各味药材及辅料,按本品工艺及供试品溶液的制备方法,制备肉桂阴性供试品溶液、小茴香阴性供试品溶液及当归与川芎阴性供试品溶液,注入气相色谱仪进行测定,结果:阴性均无干扰,专属性良好,见图1~7。

2.5 线性关系考察

取不同浓度的对照品溶液分别进样,测定其峰面积,以峰面积值(y)为纵坐标,进样浓度(x)为横坐标,绘制标准曲线,测得回归方程:

$$y_{\text{桂皮醛}} = 4.2546x - 4.4323 \quad R^2 = 0.9999$$

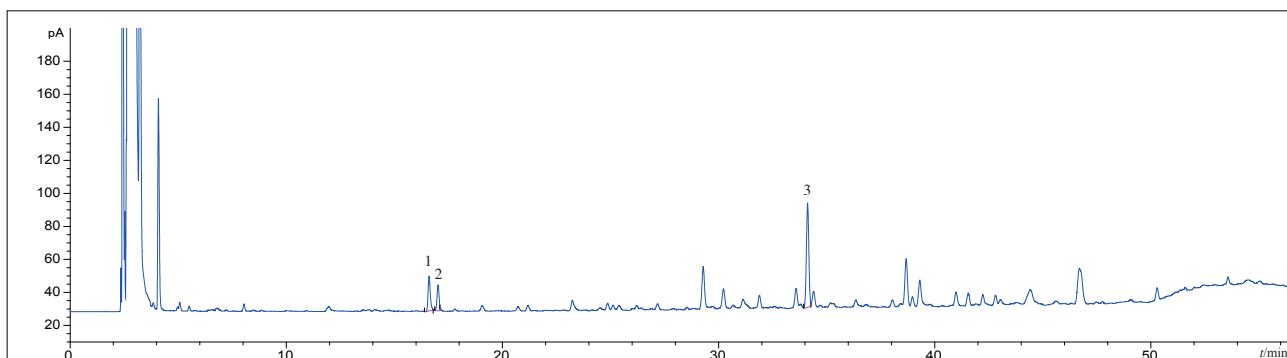
$$y_{\text{反式茴香脑}} = 4.6949x - 15.2392 \quad R^2 = 0.9990$$

$$y_{\text{蒿本内酯}} = 4.6949x - 15.2392 \quad R^2 = 0.9990$$

结果表明,桂皮醛在7.500~480.0 μg·mL⁻¹、反式茴香脑在5.145~658.6 μg·mL⁻¹、蒿本内酯在9.000~450.0 μg·mL⁻¹,峰面积值与进样浓度有良好的线性关系,见表2。

表2 线性关系考察结果($n=2$)

名称	进样浓度(μg·mL ⁻¹)与峰面积							
桂皮醛	进样浓度	7.500	15.00	30.00	60.00	120.0	240.0	480.0
	峰面积	26.6	53.1	120.7	248.5	501.6	1028.55	2033.75
反式茴香脑	进样浓度	5.145	20.58	41.16	82.32	164.6	329.3	658.6
	峰面积	24.0	88.7	186.6	366.8	703.5	1473.05	3118.75
蒿本内酯	进样浓度	9.000	16.88	33.75	56.25	112.5	225.0	450.0
	峰面积	30.55	65.5	116.6	188.05	367.65	749.55	1467.7



1. 桂皮醛 (RT: 16.605) ; 2. 反式茴香脑 (RT: 17.021) ; 3. 蒿苯内酯 (RT: 34.118) 。

图1 供试品溶液 GC 色谱图

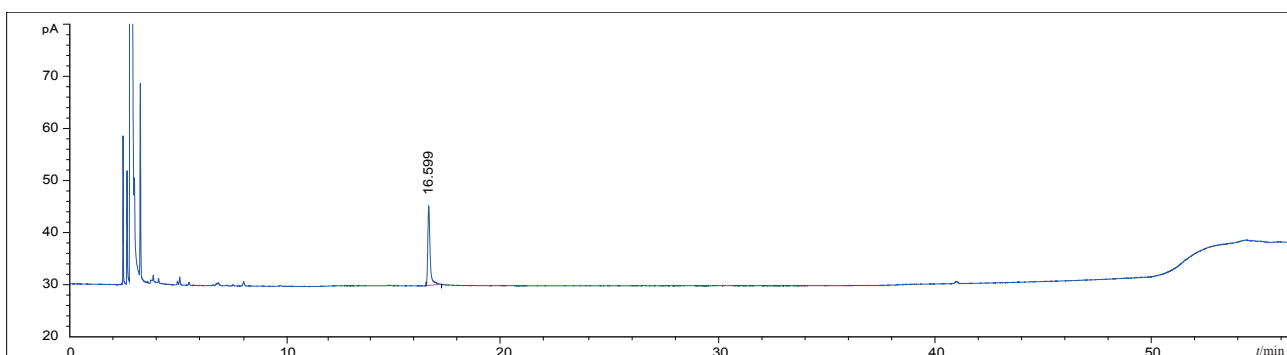


图2 桂皮醛 GC 色谱图

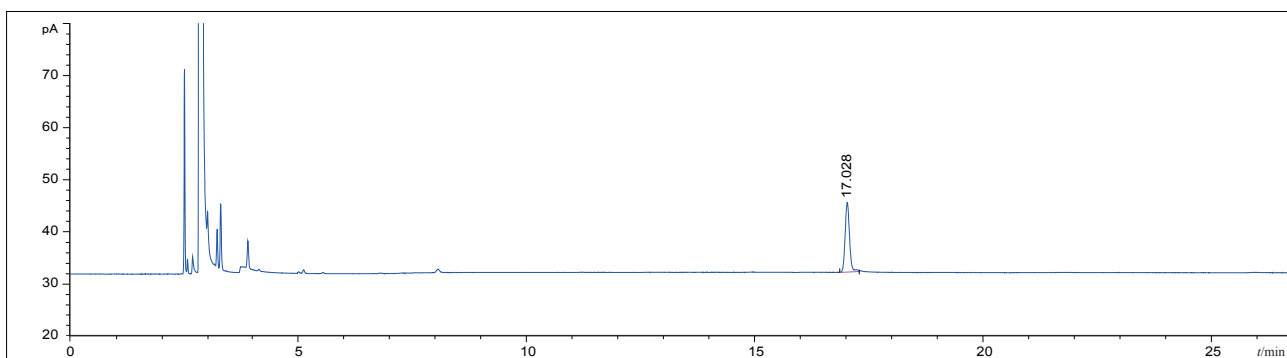


图3 反式茴香脑 GC 色谱图

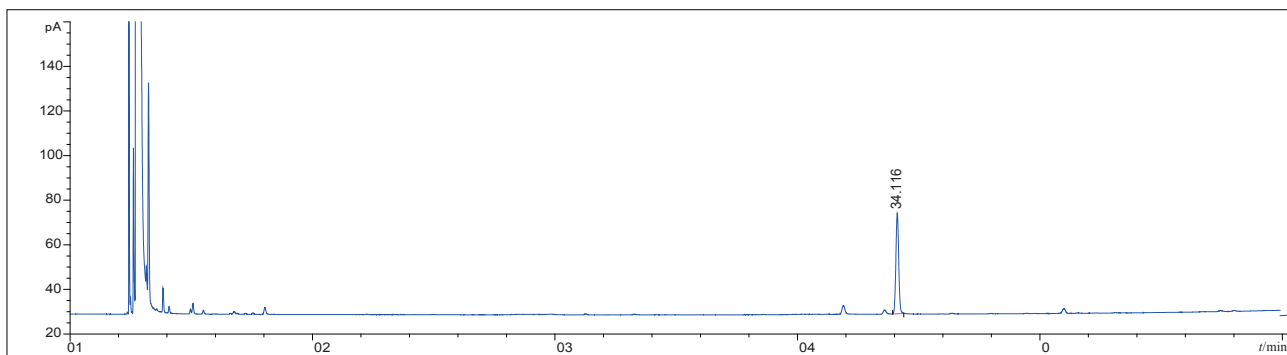
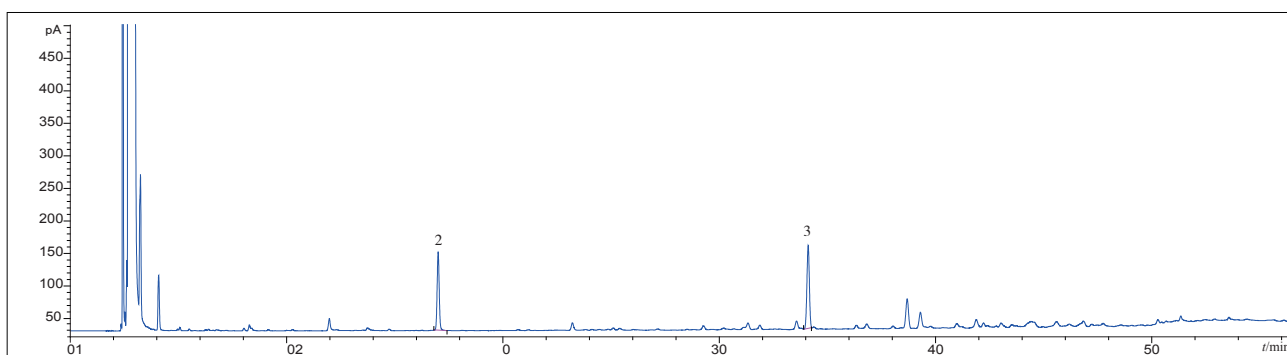
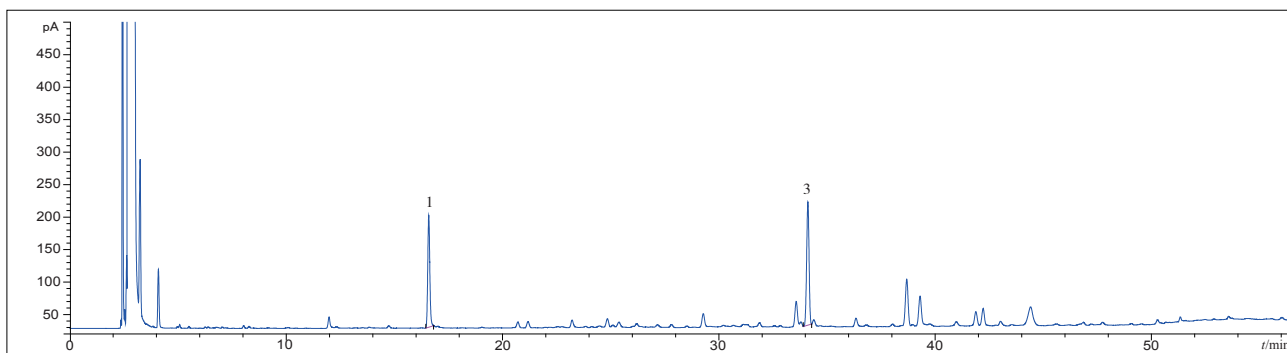


图4 蒿苯内酯 GC 色谱图



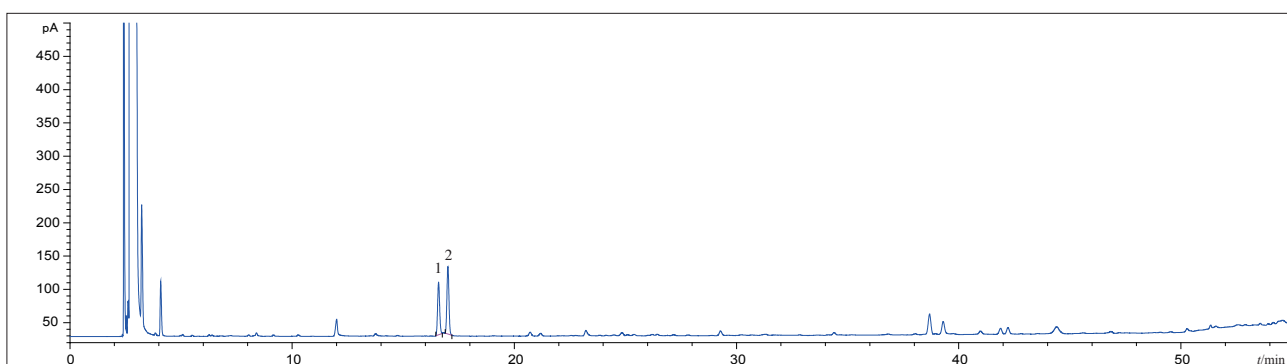
2. 反式茴香脑 (RT: 17.009) ; 3. 蒿苯内酯 (RT: 34.116) 。

图5 阴性(缺肉桂)对照 GC 色谱图



1. 桂皮醛 (RT: 16.589) ; 3. 蒿苯内酯 (RT: 34.117) 。

图6 阴性(缺小茴香)对照 GC 色谱图



1. 桂皮醛 (RT: 16.591) ; 2. 反式茴香脑 (RT: 17.010) 。

图7 阴性(缺当归及川芎)对照 GC 色谱图

2.6 精密度考察

精密吸取同一份对照品溶液, 重复进样6次, 结果桂皮醛、反式茴香脑及蒿苯内酯的平均峰面积分别为121.18、89.05、367.95, RSD分别为1.3%、0.67%、0.50%, 表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性考察

取同一供试品(批号: 7280003)溶液, 分别于配制后0、2、4、8、16、24 h测定峰面积, 结果桂皮醛、反式茴香脑及蒿苯内酯的平均峰面积分别为

151.18、102.00、497.85, RSD分别为0.36%、1.5%、0.19%, 表明供试品溶液在24 h内基本稳定。

2.8 重复性考察

按拟定含量测定方法, 对同一批号(批号: 7280003)的6份样品进行平行试验, 测得桂皮醛、反式茴香脑及蒿苯内酯的平均含量分别为0.1854 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 、0.1175 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 、0.7612 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD分别为0.69%、1.2%、0.14%, 结果表明该方法的重复性良好。

2.9 加样回收率试验

采用加样回收法, 取上述重复性试验所用的样品(批号: 7280003) 1.5 g、2.5 g、3.5 g, 精密称定, 分别精密加入浓度为0.02400 mg · mL⁻¹的桂皮醛对照品溶液25 mL, 按拟定含量测定方法制备, 依法测定, 计算回收率; 取样品1.5 g、2.5 g、3.5 g, 精密称定, 分别精密加入浓度为0.009879

mg · mL⁻¹的反式茴香脑对照品溶液25 mL, 按拟定含量测定方法制备, 依法测定, 计算回收率; 另取样品1.5 g、2.5 g、3.5 g, 精密称定, 分别精密加入浓度为0.04500 mg · mL⁻¹的蒿本内酯对照品溶液25 mL, 按拟定含量测定方法制备, 依法测定, 计算回收率, 结果见表3~5。

表3 桂皮醛回收率测定结果 (n=9)

样品	取样量/g	测得量/mg	加入量/mg	回收率/%	均值/%	RSD/%
1	1.5068	0.8599	0.5916	98.11		
2	1.5052	0.8595	0.5916	98.11		
3	1.5013	0.8614	0.5916	98.54		
4	2.5036	1.0512	0.5916	99.20		
5	2.5031	1.0530	0.5916	99.53	99.0	0.73
6	2.5062	1.0530	0.5916	99.43		
7	3.5066	1.2397	0.5916	99.64		
8	3.5039	1.2281	0.5916	97.76		
9	3.5045	1.2330	0.5916	98.57		

表4 反式茴香脑回收率测定结果 (n=9)

样品	取样量/g	测得量/mg	加入量/mg	回收率/%	均值/%	RSD/%
1	1.5052	0.4191	0.2462	98.40		
2	1.5041	0.4209	0.2462	99.20		
3	1.5025	0.4192	0.2462	98.57		
4	2.5037	0.5371	0.2462	98.68		
5	2.5039	0.5350	0.2462	97.85	98.3	0.57
6	2.5046	0.5359	0.2462	98.17		
7	3.5053	0.6532	0.2462	98.07		
8	3.5035	0.6558	0.2462	99.21		
9	3.5048	0.6523	0.2462	97.74		

表5 蒿本内酯回收率测定结果 ($n=9$)

样品	取样量 /g	测得量 /mg	加入量 /mg	回收率 /%	均值 /%	RSD/%
1	1.5055	2.2404	1.1250	97.27		
2	1.5047	2.2423	1.1250	97.50		
3	1.5023	2.2564	1.1250	98.92		
4	2.5038	3.0296	1.1250	99.88		
5	2.5036	3.0147	1.1250	98.57	98.7	0.66
6	2.5042	3.0135	1.1250	98.42		
7	3.5056	3.7813	1.1250	98.91		
8	3.5033	3.7714	1.1250	98.19		
9	3.5041	3.7714	1.1250	98.13		

2.10 检测限与定量限考察

根据桂皮醛、反式茴香脑及蒿本内酯对照品

溶液 $S/N=3$ 及 $S/N=10$ 时的溶液浓度, 分别计算出检测限和定量限, 结果见表6。

表6 检测限、定量限考察结果

检测限与定量限	桂皮醛 / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	反式茴香脑 / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	蒿本内酯 / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
LOD	0.086	0.43	0.90
LOQ	0.29	1.4	3.0

2.11 样品的测定

按拟定方法对6批调研样品及国家评价性抽检的21批次样品进行测定, 测得桂皮醛含量范围为0.0917~5.5732 mg/丸, 反式茴香脑含量范围

为0.0549~5.7544 mg/丸, 蒿本内酯含量范围为0.3739~8.8706 mg/丸, 数值具体分布见图8~10, 可看出由于原标准的不完善, 样品中相关药味的质量参差不齐, 对疗效肯定会有一定的影响。

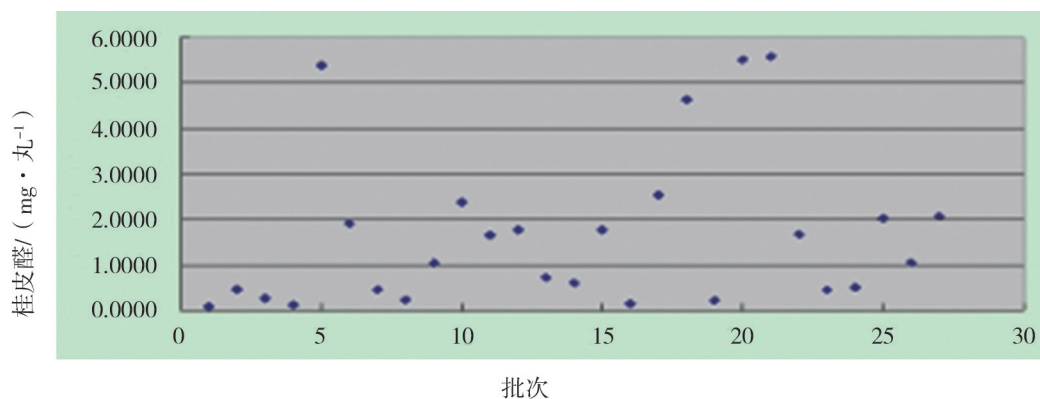


图8 27批次样品中桂皮醛含量分布图

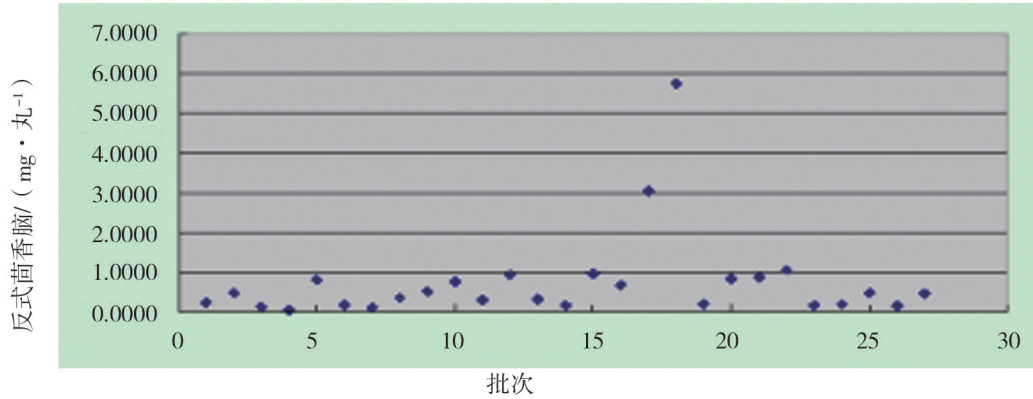


图9 27批次样品中反式茴香脑含量分布图

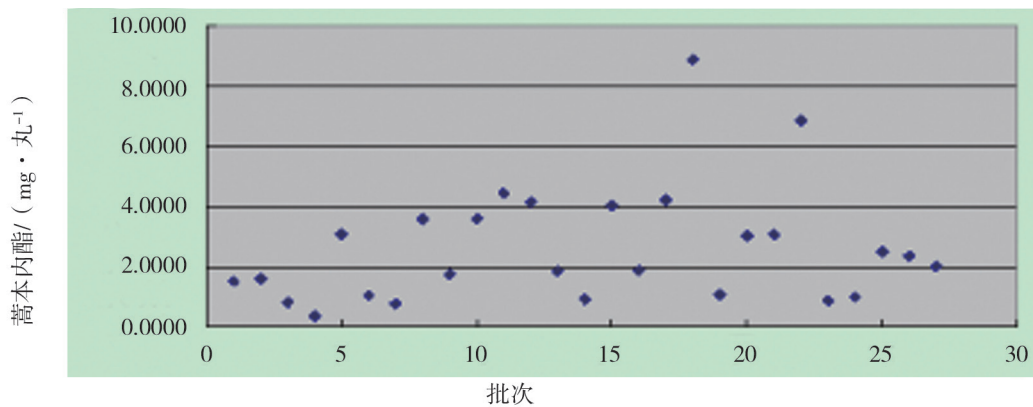


图10 27批次样品中蒿苯内酯含量分布图

3 讨论

作为常用中药当归和川芎中含量较高的活性成分，蒿苯内酯一直被广泛关注。但蒿苯内酯化学性质不稳定，有文献报道其纯品室温下极不稳定，4℃冰箱冷藏15天有约10%降解，但同时认为其在挥发油中基本稳定^[13-16]。在试验中，笔者严格按照对照品说明书保存对照品，对配制后的对照品溶液及时冷藏，在使用时随时观察对照品溶液的稳定性。在提取过程中，考虑到蒿苯内酯的稳定性，也采用了乙酸乙酯水浴加热回流的方式提取样品，以降低加热温度。整个分析测定在24小时内完成，以减少其降解的可能性。结合方法学考察结果来看，在整个分析过程中，蒿苯内酯基本稳定，可满足定量分析的需要。但另一方面，由于蒿苯内酯稳定性较差，中成药中化学成分复杂，不同成分间相互作用不可避免，使用蒿苯内酯作为指标性成分控制中药质量还需进一步研究。在今后的工作中，还将对蒿苯内酯的稳定性进行深入研究，积累更多的数

据，为使用该活性成分控制中药质量打下基础。

参考文献：

- [1] 贺克, 刘皎, 李清. 少腹逐瘀丸抗痛经作用机制研究[J]. 河北中医药学报, 2012, 27(2): 3-5.
- [2] 吴丽丽. 少腹逐瘀丸治疗痛经和月经不调的药效学研究[J]. 时珍国医国药, 2003, 14(10): 595-596.
- [3] 中国药典: 一部[S]. 2010.
- [4] 单臻, 赵陆华, 屠颖, 等. 肾宝片中挥发油GC指纹图谱的研究[J]. 中国天然药物, 2005, 3(3): 158-161.
- [5] 刘林亚. 中药桂枝、肉桂化学成分的对比研究[J]. 四川中医, 2001, 19(1): 17-19.
- [6] 金宏, 张丹丹, 于慧荣. 中药材肉桂的质量标准研究[J]. 中国林副特产, 2010, (3): 21-23.
- [7] 高莉, 斯拉普·艾白, 韩阳花. 小茴香挥发油及抑菌作用的研究[J]. 中国民族医药杂志, 2007, 13(12): 67-68.
- [8] 聂凌云, 吴玫涵, 刘云, 等. 毛细管气相色谱法测定

- 小茴香中反式茴香脑的含量[J]. 解放军药学学报, 2002, 18(3): 152-154.
- [9] 郑春生, 姚宝书, 李梅. 当归挥发油提取工艺的研究[J]. 天津科技大学学报, 2001, (1): 32-34.
- [10] 刘琳娜, 梅其炳, 程建峰. 当归挥发油的化学成分分析[J]. 中成药, 2005, 27(2): 204-206.
- [11] 陈友鸿, 莫尚志, 李洁仪, 等. 川芎挥发油成分研究[J]. 中药材, 2004, 27(8): 580-582.
- [12] 钟凤林, 杨连菊, 吉力, 等. 不同产地和品种川芎中挥发油成分的研究[J]. 中国中药杂志, 1996, 21(3): 147-151.
- [13] 李桂生, 马成俊, 李香玉, 等. 藁本内酯的稳定性研究及异构化产物的GC-MS分析[J]. 中草药, 2000, 31(6): 405-407.
- [14] 张爱君. 藁本内酯对照品提取与稳定性的研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2008, 10(5): 162-163.
- [15] 汪程远, 尹君. 藁本内酯稳定剂的研制及稳定性考察[J]. 中国药房, 2012, (35): 3294-3296.
- [16] 田雅琴, 王新霞, 高丽红. 川芎挥发油稳定性考察[J]. 上海中医药杂志, 2003, 37(7): 49-52.
- (收稿日期 2018年1月22日 编辑 王雅雯)